

## T.P. DE AULA N° 5

## CICLO DE KREBS. VÍA DE LAS PENTOSAS. METABOLISMO DE GLUCÓGENO

## OBJETIVOS

- Adquirir conocimientos sobre el Ciclo de Krebs: enzimas implicadas, puntos de regulación, balance energético.
- Conocer la secuencia de reacciones de la Vía de las Pentosas, destino de los productos, interrelaciones con la vía glicolítica, su regulación e importancia en los seres vivos.
- Conocer el metabolismo de glucógeno y su regulación hormonal.

## INTRODUCCIÓN

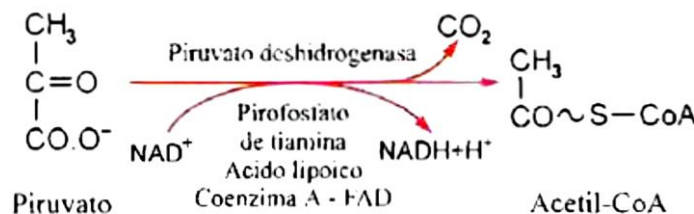
El Ciclo de Krebs o Ciclo de los Ácidos Tricarboxílicos, es una secuencia de reacciones que constituye la ruta central común para la degradación de los restos carbonados que, en forma de acetil-coenzima A (acetil-CoA), derivan del catabolismo de carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos. Estas secuencias de reacciones enzimáticas tienen lugar únicamente en los organismos aerobios.

El Ciclo está catalizado por un sistema multienzimático que acepta como combustible al grupo acetilo de la acetil-CoA, degradándolo hasta  $\text{CO}_2$  y pares de  $\text{H}^+$  y  $\text{e}^-$ . Estos últimos son conducidos a través de una cadena de transportadores hasta el  $\text{O}_2$ , que actúa como aceptor final en la mayoría de los organismos, el cual se reduce y forma  $\text{H}_2\text{O}$ , en la cadena respiratoria.

Esta secuencia de reacciones enzimáticas tiene lugar en los organismos aerobios.

## Descarboxilación oxidativa del piruvato

El piruvato citosólico obtenido mediante la vía glicolítica, ingresa en condiciones aeróbicas, a través de un transportador, a la matriz mitocondrial donde será metabolizado a acetil-CoA por el complejo multienzimático de la *piruvato deshidrogenasa*. Este complejo está constituido por tres enzimas: *Piruvatodescarboxilasa* o  $E_1$ , *Dihidrolipoiltransacetilasa* o  $E_2$ , y *Dihidrolipoil deshidrogenasa* o  $E_3$ , y requiere de cinco coenzimas: pirofosfato de tiamina, ácido lipoico, coenzima A, FAD y NAD.



El NADH producido en esta reacción transfiere los electrones a la cadena respiratoria donde se unen a oxígeno para dar agua, en el proceso se obtienen 3 ATP desde ADP.

### **Enzimas del Ciclo de Krebs**

Además del complejo de la Piruvato deshidrogenasa que cataliza la descarboxilación oxidativa del piruvato para obtener acetil-CoA, en el Ciclo propiamente dicho actúan secuencialmente las siguientes ocho enzimas:

- 1- Citrato sintasa o enzima condensante
- 2- Aconitasa
- 3- Isocitrato deshidrogenasa
- 4-  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa
- 5- Succinil-CoA sintetasa o Succinatotioquinasa
- 6- Succinato deshidrogenasa
- 7- Fumarasa
- 8- Malato deshidrogenasa

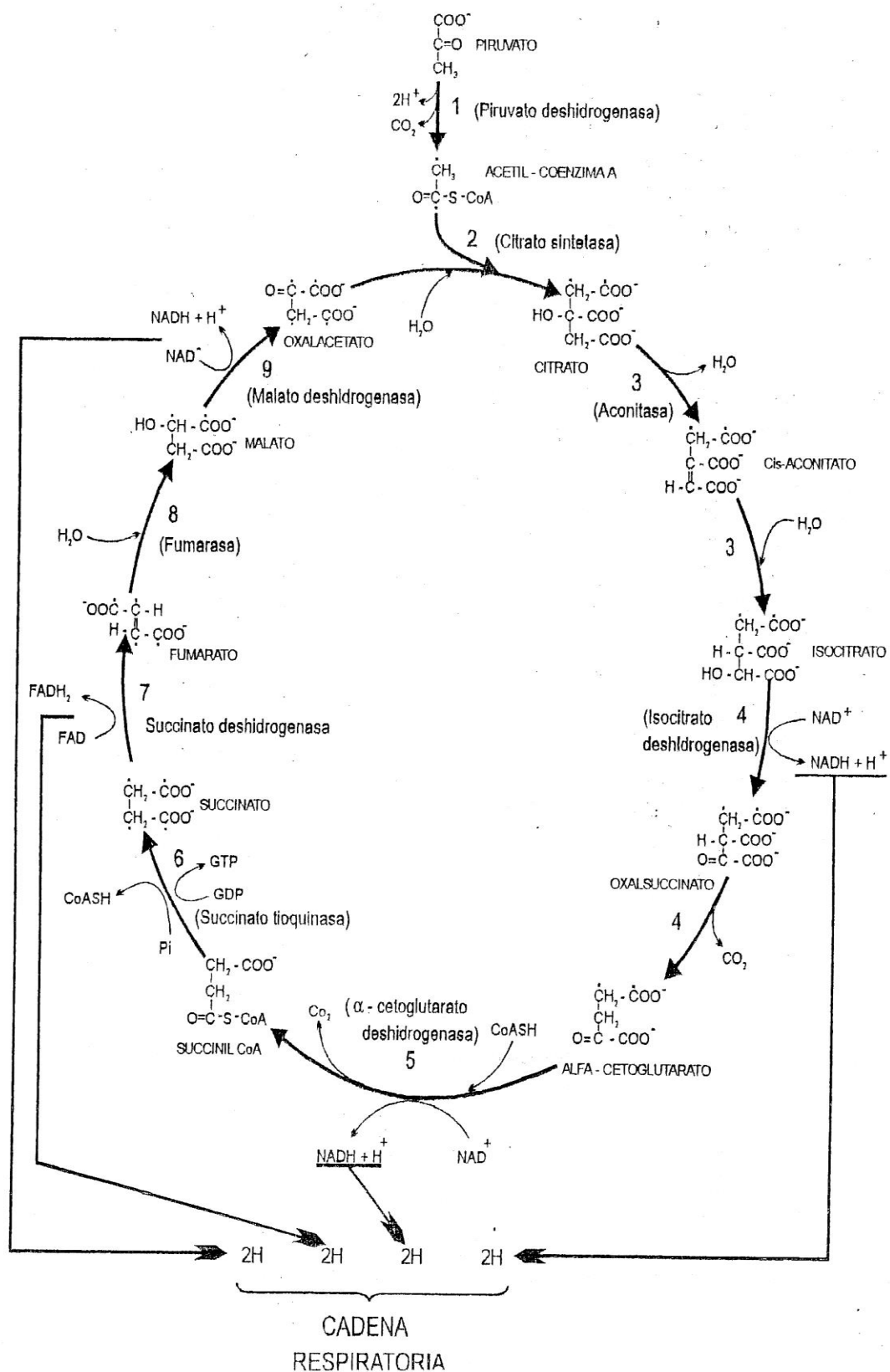
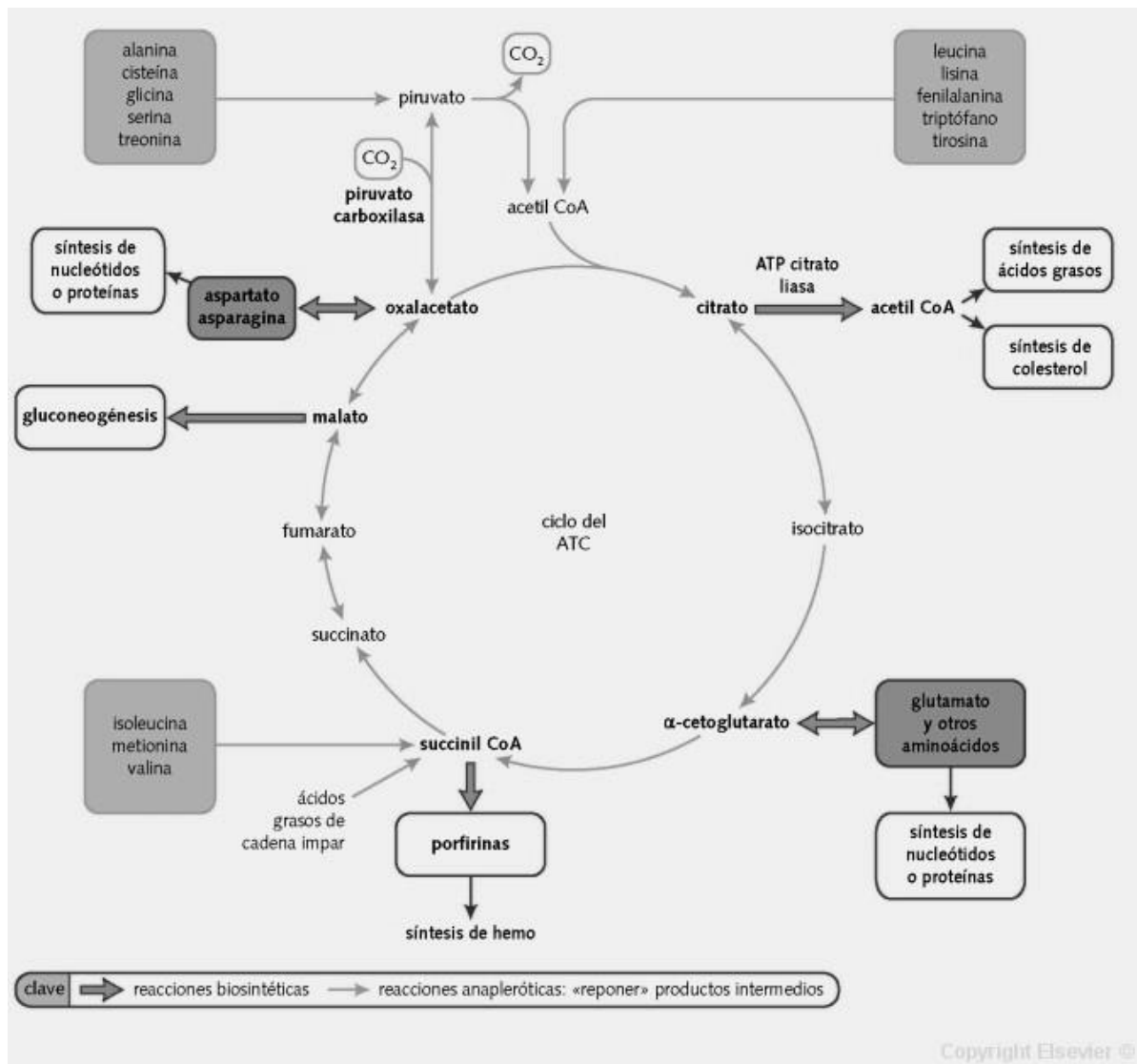


Fig 13: Esquema del Ciclo de Krebs.

### Función anfibólica del Ciclo de Krebs

Varios de los intermediarios del Ciclo están relacionados con otras vías metabólicas, sirviendo de puntos de entrada de sustratos al Ciclo y asegurando una adecuada concentración de intermediarios. A su vez, estas relaciones metabólicas posibilitan el aporte de intermediarios del Ciclo de Krebs, que actúan como precursores en distintos procesos anabólicos. El Ciclo es, por lo tanto, una vía anfibólica.

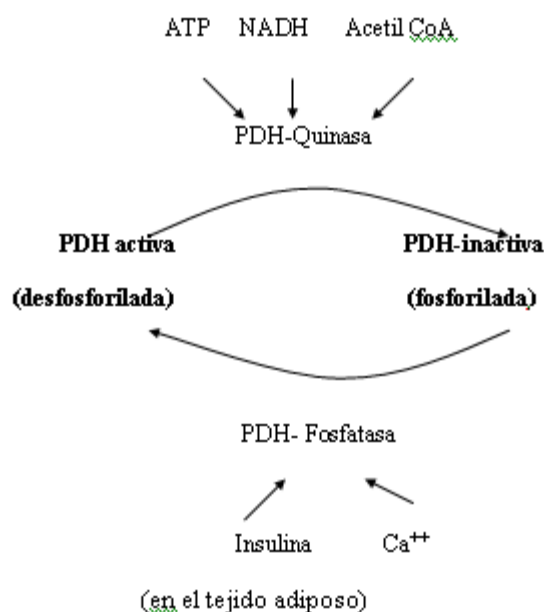
Los intermediarios retirados para servir como precursores biosintéticos, son repuestos al Ciclo mediante reacciones "anapleróticas" o "de relleno".



**Fig. 14: Función anfibólica del Ciclo de Krebs.** Tomado de Benyon S., "Lo esencial en Metabolismo y Nutrición", 1998.

### Regulación del Ciclo de Krebs

En los mamíferos, el ciclo de Krebs está controlado **indirectamente** por el complejo de la piruvato deshidrogenasa (PDH) que está regulado por dos mecanismos. Presenta *modulación alostérica* negativa por ATP, acetil-CoA y NADH. Esta regulación se complementa con un segundo nivel de regulación por *modificación covalente* mediante fosforilación reversible. En este complejo enzimático una proteína quinasa (PDH-quinasa) fosforila e inactiva a E<sub>1</sub>, en tanto que una fosfatasa específica elimina el grupo fosforilo y activa a E<sub>1</sub>. La inactivación es propiciada por altas concentraciones de ATP, acetil-CoA y NADH y la activación se estimula por insulina y el Ca<sup>++</sup> (en el ejercicio muscular intenso).



**Fig. 15:** Modulación covalente y alostérica del complejo de la Piruvato deshidrogenasa (PDH).

El control **directo** del Ciclo de Krebs propiamente dicho, se lleva a cabo en tres puntos principales:

**1°Punto de Control:** A nivel de la *citrato sintasa* la cual es una enzima alostérica que es modulada negativamente por el ATP (aumenta el K<sub>m</sub> de la enzima) y por los ácidos grasos de cadena larga.

**2°Punto de Control:** A nivel de la *isocitrato deshidrogenasa*. Esta enzima tiene como modulador alostérico positivo el ADP, y como moduladores negativos el NADH y el ATP.

**3° Punto de Control:** A nivel de la  *$\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa*, esta enzima está regulada de forma análoga al complejo piruvato deshidrogenasa.

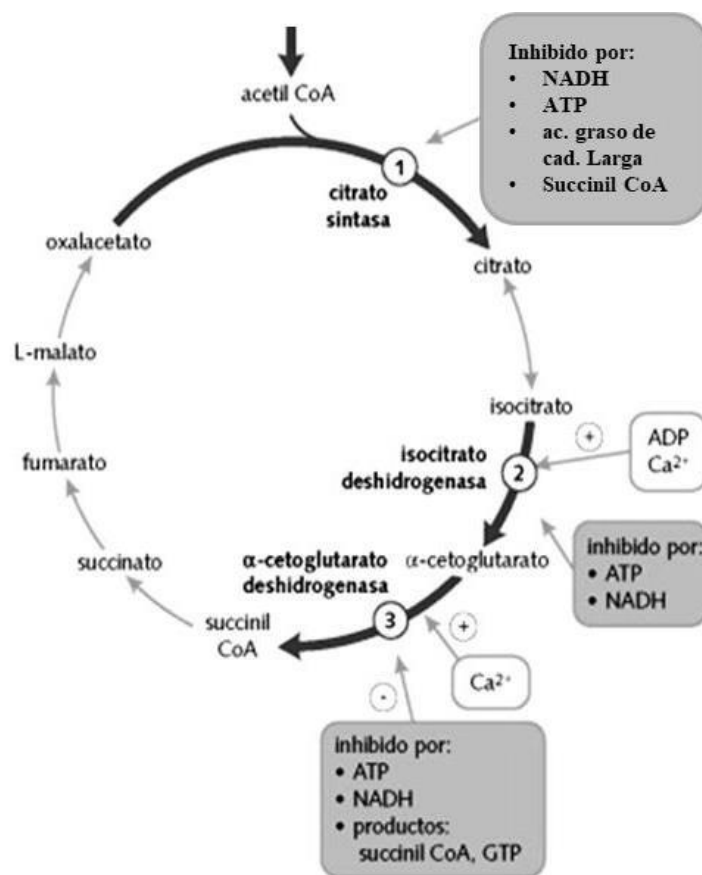


Fig.16: Regulación directa del Ciclo de Krebs. Tomado de Benyon S., "Lo esencial en Metabolismo y Nutrición", 1998.

## VIA DE LAS PENTOSAS

La **glucosa-6-fosfato** puede catabolizarse por una ruta alternativa, la Vía de las Pentosas.

Dentro de los objetivos fundamentales de esta vía está la formación de **NADPH**, utilizado principalmente en la síntesis de ácidos grasos y esteroides, como así también la producción de **ribosa-5-fosfato**, necesaria para la síntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos.

Esta ruta posibilita también la interconversión de varios carbohidratos de 3,4,5,6 y 7 átomos de carbono, relacionándolos con la vía glicolítica. Una modificación de esta vía interviene en la formación de carbohidratos a partir de CO<sub>2</sub> en vegetales y otros organismos fotosintéticos.

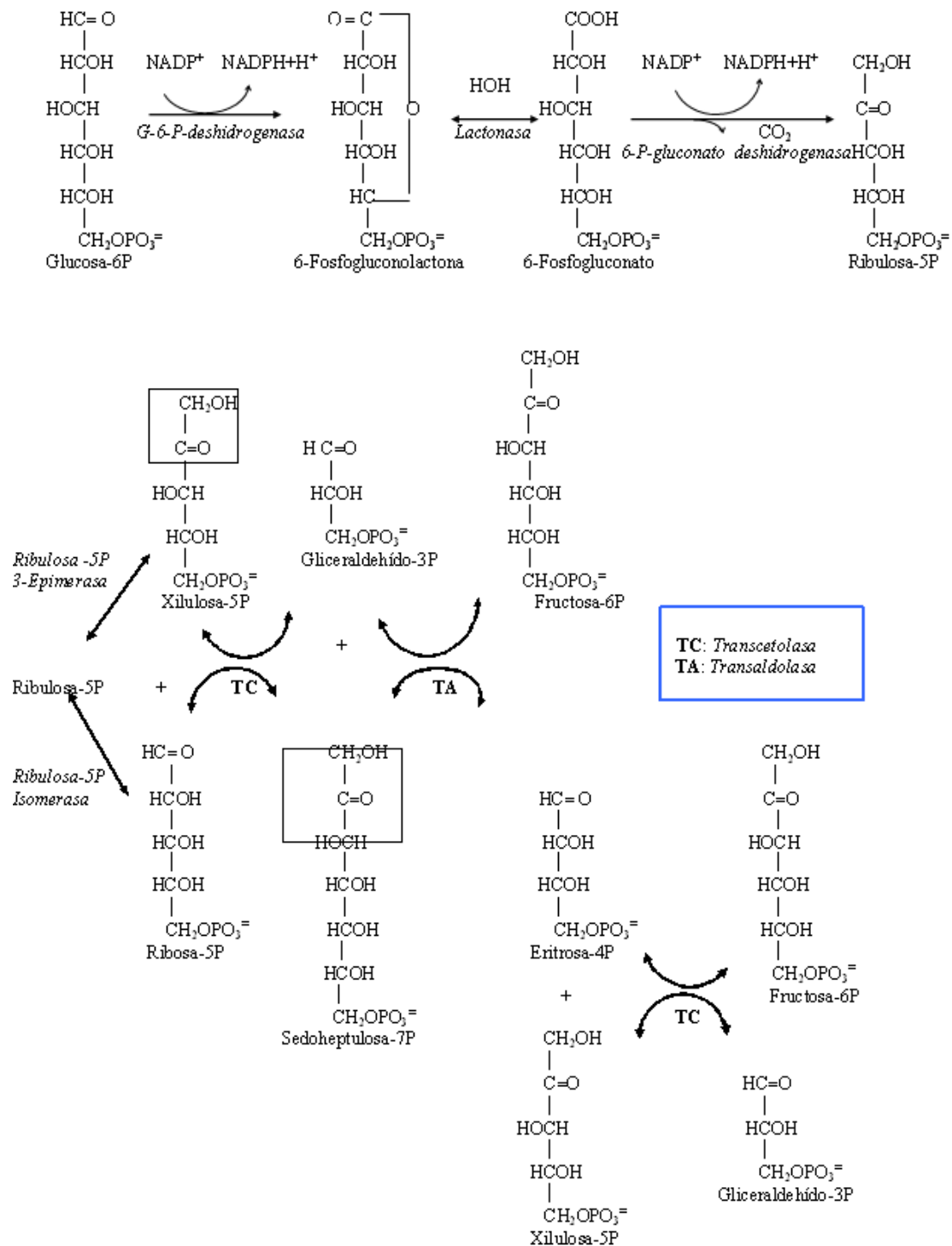


Fig. 17: Esquema de reacciones implicadas en la Vía de las Pentosas.

En el hígado el glucógeno sirve de depósito de glucosa. Por degradación del glucógeno se libera glucosa la cual pasa a la sangre para su distribución a otros tejidos.

En el músculo el glucógeno se degrada para proporcionar energía en forma de ATP para la contracción muscular.

La formación de glucógeno a partir de glucosa se realiza en muchos tejidos, principalmente hígado y músculo. Es un proceso anabólico que requiere energía y está regulado principalmente por la enzima *glucógeno sintasa*.

El glucógeno es una forma de almacenamiento de glucosa fácilmente movilizable a través del proceso denominado **glucogenólisis**. Es un proceso que utiliza enzimas diferentes a la vía anabólica siendo la enzima reguladora la *glucógeno fosforilasa*.

La glucogenólisis se lleva a cabo por la acción secuencial de dos enzimas la **glucógeno-fosforilasa** y la **fosfoglucomutasa**, produciéndose primero la eliminación secuencial de residuos de glucosa-1-fosfato (Glu-1-P) desde el extremo no reductor de la molécula de glucógeno, y luego la conversión a glucosa-6-fosfato por acción de la mutasa.

$$\text{Glucógeno} + \text{Pi} \xrightarrow[\text{fosforilasa}]{\text{Glucógeno}} \text{Glu-1-P} + \text{Glucógeno (n-1 residuos)}$$

Esta enzima que se halla en el músculo e hígado, constituye un importante ejemplo de enzima reguladora modulada por modificación covalente, con interconversión entre sus formas activa e inactiva.

La glu-1-P así formada puede degradarse hasta ácido láctico en el músculo o transformarse en glucosa libre en el hígado.

La *glucógeno sintasa* y *glucógeno fosforilasa* están reguladas en forma recíproca por un ciclo de fosforilación-desfosforilación, cuando se estimula una enzima se inhibe la otra.



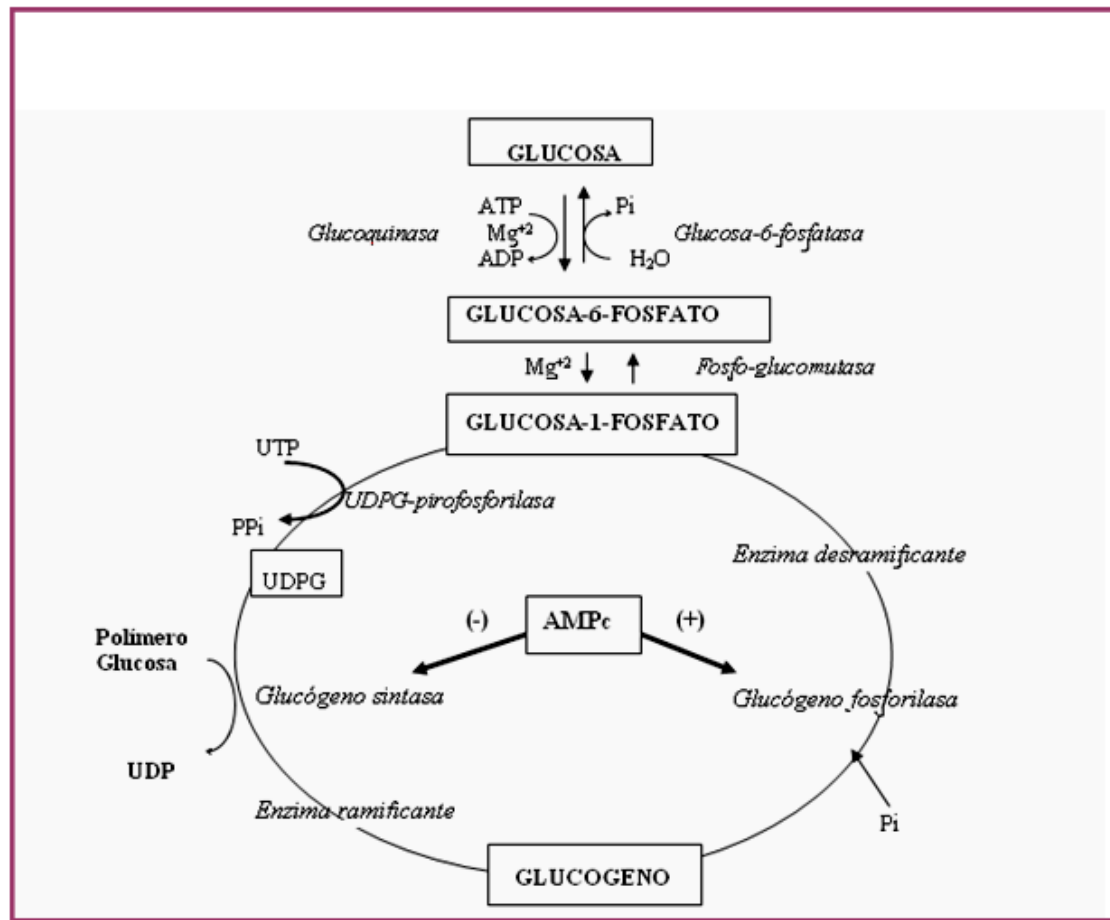
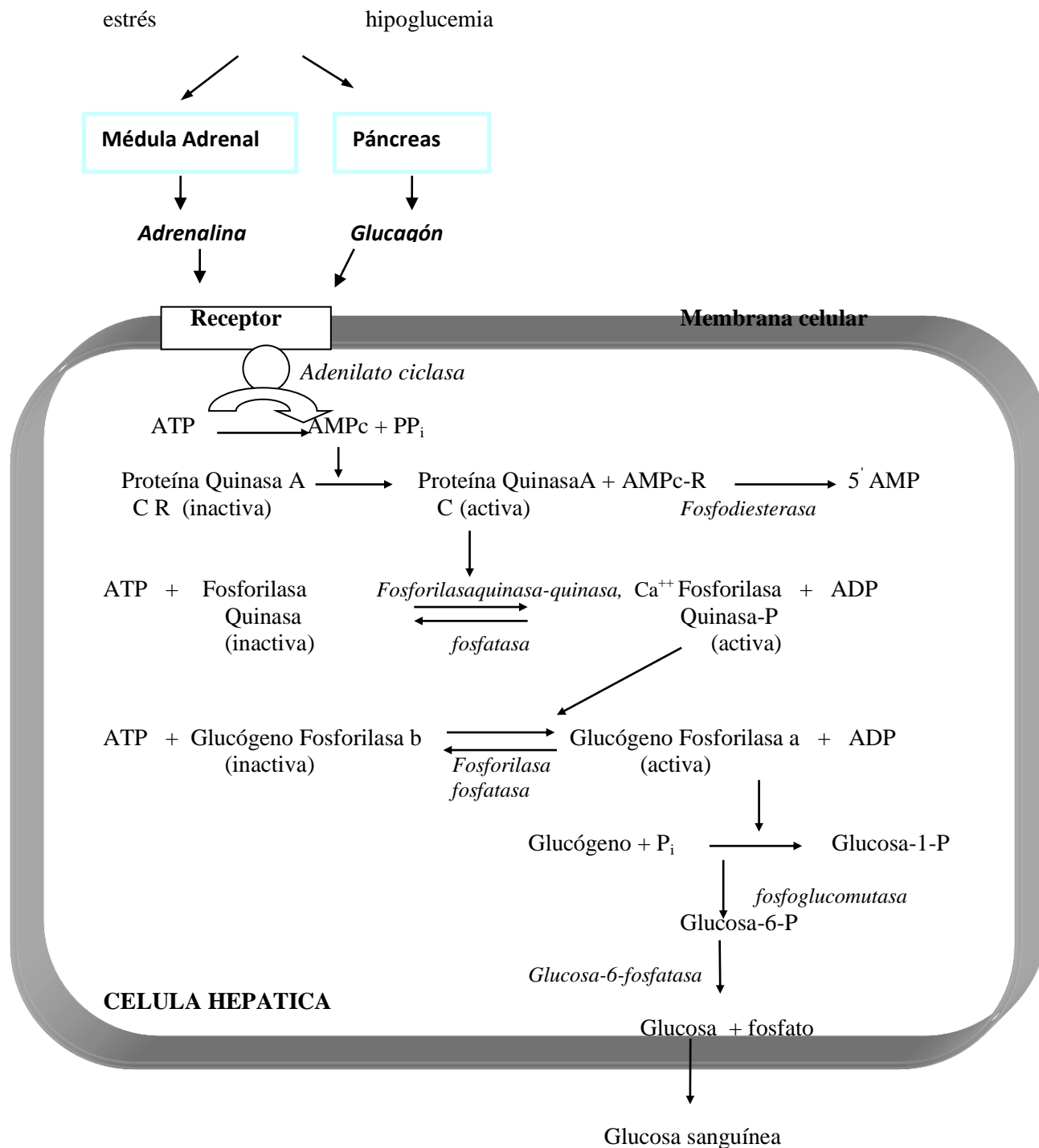


Fig.18: Esquema de los procesos de glucogenogénesis y glucogenólisis.



**C R:** Centro catalítico regulador  
**C:** subunidad catalítica  
**R:** subunidad reguladora

**Fig.19:** Esquema de la estimulación hormonal de la degradación de glucógeno.

**PROBLEMAS DE APLICACIÓN****Ciclo de Krebs**

1) Señale la posición del carbono isotópico en el ácido cítrico, cuando se incuban los siguientes compuestos marcados isotópicamente:

- a) 3- $^{14}\text{C}$  –Piruvato                      b) 5- $^{14}\text{C}$ -fructosa-6-fosfato

2) ¿Cuál es el rendimiento en ATP cuando cada uno de los siguientes sustratos es oxidado completamente a  $\text{CO}_2$  por un homogenato celular? Supóngase que la glicólisis, el ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa son completamente activos.

- a) Piruvato  
b) Lactato  
c) Fructosa-1,6 difosfato

3) El oxalacetato se forma en el último paso del ciclo del ácido cítrico, mediante la oxidación del L-malato dependiente de  $\text{NAD}^+$ . ¿Es posible obtener una síntesis neta de oxalacetato a partir de acetil-CoA utilizando únicamente las enzimas y cofactores del ciclo de Krebs y sin retirar intermediarios del ciclo? Explíquelo. ¿Cómo se recupera el oxalacetato que se pierde del ciclo por su desviación a rutas biosintéticas?

4) El fluoracetato es un compuesto producido por una planta del sur de África que se produce comercialmente para controlar plagas de roedores. Al penetrar en las células el fluoracetato se convierte en fluoroacetil-CoA, en una reacción catalizada por la enzima *acetato tioquinasa*. El efecto tóxico de este rodenticida produce una disminución en la velocidad del consumo de glucosa y de la glucólisis, observándose acumulación de glucosa-6-fosfato y fructosa-6-fosfato. Así mismo las concentraciones de los intermediarios del ciclo de Krebs son inferiores a las normales, excepto la concentración de citrato que es 10 veces superior a la normal. El fluoroacetil-CoA se transforma en fluorocitrato al reaccionar con oxalacetato.

- a) ¿Dónde se produce el bloqueo del ciclo de Krebs? ¿Qué es lo que provoca que se acumule citrato y que los demás intermediarios disminuyan?  
b) El fluoroacetil-CoA se transforma enzimáticamente en fluorocitrato. ¿Por qué disminuye el consumo de glucosa y la velocidad de la glucólisis con este veneno? ¿Por qué se acumulan las hexosas monofosfato?  
c) ¿Por qué es fatal el envenenamiento con fluoroacetato?

**Vía de las Pentosas Fosfato**

1) Explicar el destino metabólico de la glucosa-6-fosfato bajo cada una de las siguientes condiciones:

- Cuando las necesidades de NADPH son mayores que las de ribosa-5-fosfato.
- Cuando las necesidades de ribosa-5-fosfato son mayores que las de NADPH.
- Cuando las necesidades de NADPH y las de ribosa-5-fosfato son del mismo orden.

**Metabolismo del glucógeno**

1) El valor de  $V_{\text{máx}}$  de la glucógeno fosforilasa del músculo esquelético es mucho mayor que el valor de  $V_{\text{máx}}$  de la isoenzima que se encuentra en tejido hepático.

¿Cuál es el papel fisiológico de glucógeno fosforilasa en cada uno de los tejidos mencionados?

¿Por qué la enzima muscular debe tener un mayor valor de  $V_{\text{máx}}$  que la enzima hepática?

**INTEGRACIÓN DE LAS VÍAS METABÓLICAS ESTUDIADAS**

	CICLO DE KREBS	VIA DE LAS PENTOSAS	GLUCOGENÓLISIS	GLUCOGENOGÉNESIS
<b>Criterios claves:</b> función de la vía. Sustratos, productos y otros compuestos de interés.				
<b>Localización:</b> tejidos o células del organismo.				
<b>Compartimentalización:</b> sitio celular donde ocurre el proceso.				
<b>Etapas</b> globales de la vía y principales <b>puntos de control.</b>				
<b>Relación con otras vías metabólicas</b>				

## GUIA DE ESTUDIO

### Ciclo de Krebs

- ¿En qué lugar de las células se llevan a cabo las reacciones del ciclo de Krebs?
- Formular todas las reacciones del ciclo con nombre de las enzimas y coenzimas.
- En cada una de las reacciones de tipo redox ¿qué compuesto se oxida y cual se reduce?
- ¿Cuántos moles de ATP se produce por degradación de: acetil-CoA y piruvato?
- ¿Cuál es el aceptor de electrones en cada reacción de oxidación?
- ¿Cuáles son las enzimas que intervienen en la regulación del ciclo de Krebs?
- ¿Qué intermediarios del ciclo pueden servir como precursores de otras vías metabólicas?
- Suponga que el organismo demanda la síntesis de ácidos grasos y que las condiciones energéticas celulares estén dadas para tal fin, ¿cómo puede colaborar el Ciclo de Krebs en esta función?

### Vía de las Pentosas:

- Reacciones, enzimas y cofactores. Formular la fase oxidativa de la vía y esquematizar la fase no oxidativa.
- ¿En qué reacciones se produce NADPH? ¿Qué vías metabólicas lo pueden utilizar?
- ¿Cuáles son las enzimas de la fase oxidativa de la vía?
- ¿Cuál es el mecanismo de acción de la transaldolasa y transcetolasa? ¿En qué reacciones actúan estas enzimas?
- ¿Por qué esta vía metabólica es muy activa en células en etapas de división celular intensa?
- ¿Qué reacciones catalizan las enzimas epimerasa e isomerasa?
- ¿Por qué es importante el pirofosfato de tiamina para esta vía metabólica?
- En la reacción de oxidación de glucosa-6-fosfato ¿Cuáles son los productos de reacción?
- ¿Qué intermediarios de la vía glicolítica se producen en esta vía?
- ¿En qué órganos y tejidos es más activa esta vía?

### Metabolismo del Glucógeno:

#### Glucogenólisis y glucogenogénesis:

- Principales órganos implicados.
- Sustratos y productos de los dos procesos.
- Secuencia de reacciones. Esquemas.
- Enzimas reguladoras.
- Regulación coordinada de la síntesis y degradación del glucógeno